Aus der
Chemischen Abteilung des pathologischen Institutes der Charité
Vorstand: Prof. Dr. Rona

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der

Medizinischen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

vorgelegt von

Hans Joachim Trurnit

aus Essen

Tag der Promotion: 2. X. 1932

131

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: **Prof. Dr. v. Bergmann**
Referent: **Prof. Dr. P. Rona**
Korreferent: **Prof. Dr. His**

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533918_0123

Frühere Arbeiten von *P. Rona* und *R. Ammon*[1] und *P. Rona, R. Ammon* und *M. Werner*[2] zeigten, daß auch bei der durch Organpulver katalysierten Bildung von Milch- und Buttersäureestern die Esterasen eine stereochemische Spezifität aufwiesen. Es wurde gefunden, daß bei Anwendung sowohl eines racemischen Alkohols, als auch einer racemischen Säure als Substrate bei der Synthese die erhaltenen Ester optisch aktiv sind.

Da gerade bei den Estern der Mandelsäure die Hydrolyse durch verschiedene Esterasen eingehend studiert worden ist, wobei sehr charakteristische stereospezifische Verhältnisse gefunden wurden[3], so unternahmen es *P. Rona, R. Ammon* und *H. A. Oelkers*[4], die optischen Verhältnisse bei der Mandelsäure-Esterbildung zu untersuchen. Überraschenderweise wurde gefunden, daß die bei der Hydrolyse von Mandelsäureestern in so ausgeprägter Weise vorhandene Konfigurationsspezifität im Falle der fermentativen Mandelsäureesterbildung nicht wiederzufinden ist. In isomolaren Ansätzen aus d-Mandelsäure, normalem Butylalkohol und l-Mandelsäure, normalem Butylalkohol, denen eine Reihe verschiedener Organpulver zugesetzt wurden, bildeten sich die aktiven Butylmandelate mit gleicher — für jedes Organpulver verschiedener — Geschwindigkeit. In Ansätzen, die aus d, l-Mandelsäure, normalem Butylakohol und Organpulvern bestanden, bildete sich optisch inaktives Butylmandelat.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist, die Bildung von Mandelsäureestern eingehender zu studieren.

---

[1] Diese Zeitschr. **217**, 34, 1930.
[2] Ebendaselbst **221**, 381, 1930.
[3] *R. Ammon*, Fermentforsch. **11**, 459, 1930.
[4] Diese Zeitschr. **231**, 59, 1931.

Die Arbeiten von *E. Bamann* und *P. Laeverenz*[1] zeigten, daß das Strychnin die Konfigurationsspezifität der Menschenleberesterase bei der Hydrolyse von d, l-Mandelsäureestern beeinflußt[2]. Daher wurde geprüft, ob das Strychnin auch auf die Geschwindigkeit der Mandelsäureesterbildung wirkt und ob dabei vielleicht eine optisch auswählende Synthese, also asymmetrische Mandelsäureesterbildung erfolgt. Ferner ist durch *W. Fabisch*[3] bekannt, daß Calciumchlorid die enzymatische Synthese von Olein-, Elaidin- und Erucasäure-Isoamylestern hemmt. *E. Keeser*[4] fand ferner, daß anorganische Körper, wie Magnesiumchlorid und Calciumchlorid die Geschwindigkeit der Salicinhydrolyse durch Emulsin — gemessen an der Abnahme der Linksdrehung — beeinflussen. Daher wurde von uns auch der Einfluß von Magnesiumchlorid und Calciumchlorid auf die fermentative Mandelsäureesterbildung untersucht und geprüft, ob dabei die Synthese optisch auswählend erfolgt. Man muß eine Einwirkung auf die Konfigurationsspezifität des Enzyms von anorganischen, optisch nicht aktiven Körpern, wie Calcium und Magnesium, auf solche Synthesen deshalb als möglich voraussetzen, weil nach den bisherigen Vorstellungen über die Enzymwirkung (Bildung und Zerfall einer Substrat-Fermentverbindung, wobei im Falle eines Substrates mit asymmetrischem Kohlenstoffatom zwei diastereomere Verbindungen auftreten, deren Eigenschaften verschieden sein können) sich zwei neue diastereomere Körper bilden könnten (Calcium-Ferment-Substratkomplex oder Magnesium-Ferment-Substratkomplex), deren Bildungs- und Zerfallsgeschwindigkeiten von den metallfreien Ferment-Substrat-Verbindungen ganz verschieden sein können.

Ferner wurde noch der Einfluß von taurocholsaurem Natrium auf die Mandelsäureesterbildung untersucht. Es handelte sich hier, wie beim Strychnin, um einen optisch aktiven Körper.

Schließlich wurde als Alkohol das d, l-Äthyl-Phenyl-Carbinol, also ein Alkohol mit einem asymmetrischen Kohlenstoffatom ($C_6H_5 \cdot \overset{\times}{C}HOH \cdot C_2H_5$) in anderen Ansätzen verwandt und zunächst untersucht, ob überhaupt die Bildung des Mandelsäureesters dieses Carbinols erfolgt, und wenn ja, ob bei der Esterifizierung die Mandelsäure wieder racemisch verestert wird und ob dabei gleichzeitig einer Modifikation des Carbinols der Vorzug gegeben wird. Denn es hat sich in

---

[1] Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **63**, 349, 394, 1931. Vgl. auch *R. Ammon* und *H. Fischgold*, Diese Zeitschr. **234**, 54, 1931.

[2] Siehe auch *M. Kuroya*, ebendaselbst **225**, 452, 1930, der dieses für die alkoholische Komponente bei der Hydrolyse von Phosphorsäureestern durch Phosphatasen fand.

[3] Ebendaselbst **234**, 84, 1931.

[4] Arch. f. experm. Pathol. u. Pharm. **166**, 663, 1931.

Untersuchungen von *P. Rona, E. Chain* und *R. Ammon*[1] gezeigt, daß racemische Carbinole vom Typ (C_6H_5 . CHOH . R) sich gut mit Buttersäure verestern lassen und daß hierbei (unter Anwendung von Schweinepankreaspulver) das Ferment einer optisch aktiven Modifikation den Vorzug gibt. Von *Murray* und *King*[2] wurde ferner gefunden, daß solche Carbinole bei der Hydrolyse von Äthylbutyrat und Äthylpropionat verschieden stark hemmend wirken, je nachdem, ob es sich um die d- oder um die l-Form handelt.

Als Fermentpräparate wurden in den vorliegenden Untersuchungen die Aceton-Äther-Trockenpulver einer normalen Menschenleber und Schweinebauchspeicheldrüse benutzt. Die Organe wurden zweimal durch den Fleischwolf gedreht, mehrfach mit Aceton, Aceton-Äther und Äther extrahiert, an der Luft getrocknet, 12 Stunden in der Kugelmühle gemahlen und schließlich durch ein sehr feines Sieb aus hartem Messingdraht geschüttelt und in eine Pulverflasche mit Schliffstöpsel gefüllt. Durch eine Kontrolle mit gleichen Ansätzen zu Beginn der Versuche und mit dem letzten Reste der Pulver wurde festgestellt, daß die Wirksamkeit sowohl des Leber- als auch des Pankreaspräparates in einem halben Jahre nicht merkbar abgenommen hatte.

Als Substrate dienten: normale Buttersäure, d, l-Mandelsäure, normaler Butylalkohol, Isoamylalkohol, sekundärer Butylalkohol (Methyl-Äthyl-Carbinol) und normaler Propylalkohol (diese Präparate von *Kahlbaum*). Das benutzte Strychnin wurde erst als Sulfat zugesetzt, später aus diesem die Base mit Ammoniak gefällt und als solche benutzt.

Das Äthyl-Phenyl-Carbinol wurde in den erforderlich großen Mengen nach einer modifizierten *Grignard*-Methode unter Rühren hergestellt, die in einer gleichzeitig erscheinenden Arbeit von *P. Rona, E. Chain* und *R. Ammon* näher beschrieben wird[3]. Der Siedepunkt des zu dieser Arbeit benutzten Präparates lag bei 10 mm Hg zwischen 98 und 100° C.

Als Maß der Esterbildung wurde der titrimetrisch gemessene Säureschwund genommen; die Berechtigung dazu erhellt aus den weiter unten beschriebenen Vorversuchen.

Die Entnahmen aus den Ansätzen (immer je 2 ccm) wurden mit n/25 und n/20 Natronlauge, mit Phenolphthalein als Indikator, titriert unter Zusatz von absolutem — mit Petroläther vergälltem — Alkohol[4].

Die chemische Aufarbeitung der Ansätze erfolgte nach den Angaben von *P. Rona* und *R. Ammon*[5] und *P. Rona, R. Ammon* und *H. A. Oelkers*[6].

Die Versuchsansätze befanden sich zwischen den Entnahmen in einem auf 32° C genau eingestellten Thermostaten in einer Schüttelvorrichtung. Spontane Esterbildung, also ohne Zusatz von Organpulvern, wurde bei allen untersuchten Alkohol-Säurekombinationen in Zeiten, die den jeweiligen

---

[1] Diese Zeitschr. S. 113.

[2] Biochem. J. 24, 190, 1930.

[3] l. c. An dieser Stelle möchten wir auch Herrn cand. phil. *E. Chain* für seine freundliche Mitarbeit danken.

[4] Siehe auch die methodischen Anmerkungen bei *P. Rona, R. Ammon* und *H. Fischgold*, diese Zeitschr. 241, 460, 1931.

[5] l. c.

[6] l. c.

Versuchszeiten gleich waren, nicht gefunden. Die Versuchsdauer betrug längstens 72 Stunden.

Die chemische Aufarbeitung der Ansätze von Äthyl-Phenyl-Carbinol, Mandelsäure und Organpulver geschah nach einer Methode, die in der gleichzeitig erscheinenden Arbeit von *Rona, Chain* und *Ammon* (l. c.) mitgeteilt wird und auf die bei der Besprechung der Ergebnisse noch etwas näher eingegangen wird.

Zunächst wurde in Vorversuchen die Wirkung von Strychnin auf die Geschwindigkeit der Synthese von Buttersäure an Isoamylalkohol untersucht, und zwar für verschieden große Strychninmengen und bei Verwendung von Pankreasesterase (Schwein).

Tabelle I.

Versuche über die Strychnineinwirkung auf die Isoamyl-Butyratsynthese mit Schweinepankreaspulver.

Iso-Amyl-alkohol ccm	Norm. Butter-säure ccm	Wasser ccm	Ferment-pulver mg	Strychnin-sulfat mg	Anfangs-Titer	Nach 19 Std.		Nach 28 Std.		Nach 42 Std.	
						Titer	Synthese %	Titer	Synthese %	Titer	Synthese %
46	1,2	2,8	100	—	13,3	6,8	49	6,3	53	5,7	57
46	1,2	2,8	100	100	13,7	13,4	2,2	13,1	4,4	13,2	3,6
46	1,2	2,8	100	5	13,1	11,7	11	11,8	10	11,8	10
46	1,2	2,8	—	—	13,4	13,4	0	13,3	0,7	13,4	0
46	1,2	2,8	—	100	13,5	13,3	1,5	13,3	1,5	13,4	0,8

Aus diesem Versuch geht hervor, daß ein Zusatz von 100 mg Strychnin zu einer m/25 Buttersäurelösung in Isoamylalkohol die Synthese stark hemmt und daß ein Zusatz von 5 mg Strychnin die Synthese noch merkbar hemmt. Vorversuche mit noch geringeren Strychninkonzentrationen, bei denen aber sehr bald die Grenze der Genauigkeit dieser Methode erreicht wird, deuten darauf hin, daß das Strychnin auch in noch kleineren Mengen als 5 mg pro 50 ccm hemmend auf die Synthese einwirkt.

Zu einem Ansatz von d, l-Mandelsäure, Butylalkohol und Pankreaspulver wurden ebenfalls steigende Mengen Strychnin zugesetzt.

Tabelle II.

Versuch über die Strychnineinwirkung auf die Butyl-Mandelatsynthese mit Schweinepankreaspulver.

Ansatz	Strychnin mg	Anfangs-Titer	Nach 18 Std.		Nach 41 Std.	
			Titer	Synthese %	Titer	Synthese %
360 mg Mandelsäure + 50 ccm Butylalkohol + 3 g Fermentpulver	0	2,28	1,60	30	1,49	35
	10	2,31	1,65	28	1,54	33
	30	2,32	1,66	28	1,56	33
	50	2,75	2,21	20	1,97	28

Aus diesem Versuch ersieht man, daß Strychninmengen, die bei der Amyl-Butyratsynthese schon stark hemmen, kaum hemmend auf die Butylmandelatsynthese einwirken.

In einigen Vorversuchen wurde auch der Einfluß von Wasser auf die Butylmandelatsynthese untersucht, da uns zunächst nur Strychninsulfat zur Verfügung stand und dasselbe, in Wasser gelöst, den Versuchsansätzen zugesetzt wurde. Als Beispiel für diese Versuche dienen Tabelle III und IV.

Tabelle III.

Versuche über die Beeinflussung einer Butylmandelatsynthese durch Wasser.

Mandelsäure mg	Butylalkohol ccm	H_2O ccm	Ferment g	Anfangs-Titer	Nach 30 Std.		Nach 47 Std.	
					Titer	Synthese %	Titer	Synthese %
360	50,8	—	2	2,49	1,98	20	1,89	23
360	50,6	0,2	2	2,45	1,94	21	1,89	23
360	50,4	0,4	2	2,42	1,96	19	1,85	24
360	50,0	0,8	2	2,35	1,95	17	1,81	23

Tabelle IV.

Versuche über die Beeinflussung einer Butylmandelatsynthese durch Wasser.

Mandelsäure mg	Butylalkohol ccm	H_2O ccm	Fermentpulver g	Anfangs-Titer	Nach 21 Std.		Nach 30 Std.		Nach 47 Std.	
					Titer	Synthese %	Titer	Synthese %	Titer	Synthese %
360	53	—	2	2,54	2,00	21	1,95	23	1,91	25
360	52	1	2	2,32	1,85	20	1,80	22	1,76	24
360	51	2	2	2,18	1,90	12	1,85	15	1,82	16
360	50	3	2	2,18	1,94	11	1,91	12	1,89	13

Man sieht, daß unter den angegebenen Bedingungen Wasser von etwa 1 ccm ab die Synthese ungünstig beeinflußt.

Dann wurden Versuche angestellt über die Schädigung des Ferments durch den Butylalkohol und durch die Mandelsäure.

Eine bestimmte Menge Fermentpulver wurde in Butylalkohol suspendiert und 25 Stunden bei 32° C geschüttelt, dann Mandelsäure zugegeben und nun die Synthese dieses Ansatzes mit derjenigen eines Kontrollansatzes verglichen, bei dem unter sonst gleichen Verhältnissen die Agenzien erst vor dem eigentlichen Syntheseversuch zusammengebracht wurden. Es ergab sich, daß die Synthese nach 24 Stunden in dem zuerst beschriebenen Ansatz 14% betrug und in dem Kontrollansatz 22%, also kommt dem Butylalkohol wohl eine schädigende Wirkung auf das Ferment zu.

Daß ebenfalls die Mandelsäure von einer bestimmten Konzentration ab das Ferment irreversibel schädigt, zeigt folgender Versuch:

Zu drei Ansätzen von je 30 ccm Butylalkohol und 1 g Organpulver werden je 100, 400 und 500 mg Mandelsäure zugegeben und diese Ansätze 20 Stunden lang bei 32° C geschüttelt. Dann wird nach Abzentrifugieren des mandelsäurehaltigen Butylalkohols und Auswaschen des Fermentpulvers auf der Zentrifuge bis zur Säurefreiheit jede dieser Fermentpulverportionen zu einem Ansatz von je 30 ccm Butylalkohol und 100 mg Mandelsäure zugesetzt und ein Syntheseversuch angestellt, dessen Verlauf folgendes Schema wiedergibt:

Tabelle V.

Versuch über die Fermentschädigung durch Mandelsäure.

Ansatz (s. Text)	Mandelsäure mg	Anfangs-Titer	Nach 24 Std.	
			Titer	Synthese %
Fermentansatz, der 20 Std. durch folgende Mengen Mandelsäure geschädigt wurde	100	2,71	2,45	9,6
	400	2,71	2,75	0
	500	2,76	2,70	2

Die Anfangssynthese der nachher mit 100 mg Mandelsäure geschädigten Fermentportion (siehe Tabelle V) betrug in 20 Stunden 31 %. Bei den späteren Versuchen wurde immer eine m/20 Lösung von Mandelsäure in Butylalkohol und eine m/10 Lösung von Mandelsäure in Äthyl-Phenyl-Carbinol gewählt, weil bei dieser Konzentration die Fermentschädigung in den in Frage kommenden Zeiten gering war und der Säureschwund mit n/20 Natronlauge aus der Mikrobürette noch mit einer Genauigkeit von 2 % bei 2 ccm Vorlage bestimmt werden konnte.

Die Frage erscheint berechtigt, ob es sich überhaupt in diesem Falle um ein Verschwinden von Säure infolge einer Esterbildung handelt oder ob etwa die Mandelsäure auf anderem Wege verschwindet, etwa abgebaut, oder an das Eiweiß des Organpulvers gebunden wird. Um eine Estersynthese nachzuweisen, wurde ein Ansatz von 50 ccm Butylalkohol, 700 mg Mandelsäure und 2 g Menschenleberpulver 24 Stunden bei 32° C geschüttelt. Die Synthese in dieser Zeit betrug 11,5 %. Nach dem Abzentrifugieren und der Bestimmung des Endtiters wurden die bleibenden 40 ccm nach Zusatz von etwas Äther im Scheidetrichter mit Soda geschüttelt, um die nicht veresterte Mandelsäure als Natriummandelat zu entfernen, der Äther abgedampft und die Lösung mit 6 ccm n Natronlauge (Titer 0,987) und 30 ccm abs. Alkohol versetzt und 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Nach dieser Zeit verbrauchte die Lösung 55,1 ccm n/10 Schwefelsäure. Daraus errechnet sich, daß annähernd 61 mg Mandelsäure verestert wurden. Auf Grund der Titration zur Bestimmung des Synthesegrades sind in der verarbeiteten Flüssigkeitsmenge 64 mg Mandelsäure verestert worden.

Weiter interessierte es, namentlich im Anschluß an eine Arbeit von *E. Bamann* und *P. Laeverenz*[1], zu untersuchen, welchen Einfluß auf die Mandelsäureestersynthese eine Vorbehandlung des Ferments durch Erhitzen haben würde.

Zunächst wurde eine Suspension von 2 g Menschenleberpulver in 20 ccm Butylalkohol in einem Wasserbade auf 99° C 20 Minuten lang erhitzt, abgekühlt, dann werden 152 mg Mandelsäure zugesetzt und der Anfangstiter bestimmt. Er betrug 1,59. Der Titer sank dann in den nächsten 21 Stunden von 1,59 auf 1,50 und in weiteren 44 Stunden auf 1,41; also fand noch eine Synthese von 7% in rund 70 Stunden statt.

Dann wurde zu einer Lösung von 150 mg Mandelsäure in 20 ccm Butylalkohol 1 g eines Menschenleberpulvers zugesetzt, das 3 Stunden trocken auf 60 bis 70° C erhitzt worden war, und zu einem gleichen Kontrollansatz 1 g unbehandeltes Leberpulver. Im ersten Falle betrugen die Werte des Anfangstiters und des Titers nach 24 und 48 Stunden: 2,12, 1,47 und 1,42; im zweiten Falle: 1,95, 1,38 und 1,28. Das bedeutet, daß das erhitzte Ferment eine Synthese von 33% bewirkt und das unerhitzte eine solche von 34%. Nun lag der Verdacht nahe, daß das Pulver beim Erhitzen Wasser verloren habe und so die Gewichtsmengen in den einzelnen Ansätzen nicht mit ihrer Wirksamkeit untereinander vergleichbar waren. Es wurden daher in einem anderen Versuche zwei Pulverportionen vor dem Erhitzen abgewogen und dann 24 Stunden lang trocken auf 70° erhitzt. Dann wurde folgender Versuch angesetzt:

Flasche 1. Die eine der erhitzten Fermentportionen (2 g) zu einer m/20 Mandelsäurelösung in Butylalkohol.

Flaschen 2. Dasselbe mit nicht erhitztem Ferment.

Flasche 3. Wie Flasche *1*, nur mit m/2 Buttersäure statt m/20 Mandelsäure.

Flasche 4. Wie Flasche *3*, aber mit nicht erhitztem Ferment.

Tabelle VI gibt Aufschluß über den Verlauf dieses Versuchs.

Tabelle VI.

Versuch Nr.	Anfangs-Titer	Nach 22 Std.	
		Titer	Synthese %
1	1,97	1,72	12,7
2	1,92	1,39	27,6
3	19,90	19,10	4,0
4	19,80	18,40	7,0

In einem weiteren Versuch wurden 2 g Menschenleberpulver in 50 ccm Butylalkohol eine Stunde lang auf dem Ölbade mit Rückflußkühler gekocht (Siedepunkt des Butylalkohols = 117° C) und nach dem Abkühlen 380 mg Mandelsäure zugesetzt (m/40). Der Kontrollansatz wurde genau so und gleichzeitig angesetzt, nur daß in der einen Stunde, in der der erste Ansatz

[1] Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **63**, 2939, 1930.

erhitzt wurde, der Kontrollansatz bei Zimmertemperatur stand. Den Verlauf des Versuches zeigt die Tabelle VII.

Tabelle VII.

Versuch Nr.	Anfangs-Titer	Nach 24 Std.		Nach 48 Std.	
		Titer	Synthese %	Titer	Synthese %
1	1,69	1,54	8,9	1,52	10,0
2	2,00	1,57	21,4	1,51	24,4

Aus diesem Versuch ergibt sich, daß es sich hier um ein außerordentlich thermostabiles Ferment handeln muß, da selbst einstündiges Erhitzen in Butylalkohol auf 117° C die Wirksamkeit des Menschenleberpulvers noch nicht vollkommen vernichtet, sondern sie nur um etwa $^3/_5$ ihrer Größe schädigt, verglichen mit der Kontrolle nach 48 Stunden; während 24stündiges, trockenes Erhitzen auf 70° C die Wirksamkeit auf ungefähr die Hälfte herabsetzt.

Wenn man die Synthesegeschwindigkeit bei isomolaren Ansätzen von Mandelsäure in normalem Butylalkohol, sekundärem Butylalkohol, normalem Propylalkohol, Iso-Amylalkohol und Phenyl-Äthyl-Carbinol, ferner die Synthesegeschwindigkeit bei isomolaren Ansätzen von Mandelsäure in Butylalkohol mit Schweinepankreas- und Menschenleberpulver vergleicht, so ergibt sich, daß bei allen Kombinationen die Synthese nach 24 Stunden zwischen 25 und 35% liegt, wenn man mit m/20 Lösungen (immer auf Mandelsäure bezogen) und rund 5% Fermentkonzentration arbeitet.

Es wurde auch ein Glycerinextrakt aus dem Pankreaspulver hergestellt und versucht, ob bei Zugabe von Mandelsäure oder Buttersäure eine Veresterung dieser Säuren mit dem Glycerin stattfände.

Eine Glycerinmandelatsynthese fand statt, und zwar waren nach 27 Stunden 17%, nach 35 Stunden 19% der Mandelsäure verschwunden. Wir haben diese Versuche nicht weiter fortgeführt, da das Glycerin infolge der Eigenveresterung als dreiwertiger Alkohol wegen der Bildung von mono-, di- und tri-Mandelaten dazu ungeeignet erscheint.

Der Einfluß von Strychnin auf die Konfigurationsspezifität von Schweinepankreasesterase und von Menschenleberesterase bei der fermentativen Mandelsäureesterbildung.

Nach diesen Vorversuchen, die über die geeigneten Substratkonzentrationen, die erforderlichen Fermentmengen und die Fehlerquellen Klarheit geschafft hatten, wurden Versuche über die Wirkung von Strychnin auf das optische Auswahlvermögen von Schweine-

pankreaspulver bei einer Butylmandelatsynthese angestellt. Als Beispiel eines solchen Versuchs dienen folgende Angaben:

In 100 ccm Butylalkohol wurden 720 mg Mandelsäure (m/20) und 200 mg Strychnin. bas. (0,2 %) gelöst. Von dieser Lösung wurden 80 ccm mit 5 g Schweinepankreaspulver 20 Stunden lang bei 32° C geschüttelt. Die Synthese in dieser Zeit betrug 31 %. Aus dieser Lösung wurde die unveresterte Mandelsäure wiedergewonnen, in 5 ccm Wasser gelöst, ein Teil der Lösung polarisiert und der Rest titriert. 2 ccm dieser Lösung verbrauchten 6,36 ccm n/25 Natronlauge. Die Lösung war also n/7 (2 %ig), enthielt also annähernd 110 mg Mandelsäure (Ausbeute 30 %). Die Drehung betrug im 1-dm-Rohr — 0,02° (die Fehlergrenze unseres Instrumentes liegt bei ± 0,02° (s. Tabelle IX, Nr. 3).

Der Einfluß von Magnesium, Calcium und taurocholsaurem Natrium auf die Butylmandelatsynthese.

Der Einfluß von Magnesiumchlorid, Calciumchlorid und taurocholsaurem Natrium auf die Synthesegeschwindigkeit der Butylmandelatsynthese mit Schweinepankreaspulver und Menschenleberpulver erhellt aus den folgenden Tabellen:

Tabelle VIIIa.

Ansatz	Zusatzstoffe	Anfangs-Titer	Nach 18 Std.	
			Titer	Synthese %
50 ccm Butylalkohol, 360 mg Mandelsäure, 3 g Schweinepankreaspulver	50 mg Calciumchlorid	2,37	1,87	21
	50 mg Magnesiumchlorid	2,37	1,70	28
	150 mg tau. Na.	2,45	1,97	20
	—	2,37	1,89	20

tau. Na = taurocholsaures Natrium.

Tabelle VIIIb.

Ansatz	Zusatzstoffe	Anfangs-Titer	Nach 26 Std.	
			Titer	Synthese %
50 ccm Butylalkohol, 360 mg Mandelsäure, 3 g Schweinepankreaspulver	125 mg Calciumchlorid	2,34	1,69	31
	125 mg Magnesiumchlorid	2,33	1,41	39
	150 mg tau. Na	2,56	1,78	30

tau. Na = taurocholsaures Natrium.

Aus beiden Versuchen geht hervor, daß Magnesiumchlorid in den angewandten Konzentrationen eine Förderung der Synthese bewirkt. Bei einem dem in Tabelle VIII dargestellten entsprechenden Versuch, in dem nur statt Schweinepankreaspulver Menschenleberpulver genommen wurde, ergaben sich Unterschiede in der Synthesegeschwindigkeit, die unter 2% lagen, also innerhalb der Fehlergrenze.

Einfluß des Magnesiumchlorids auf die Konfigurationsspezifität der Schweinepankreasesterase auf die Butylmandelatsynthese.

Ein Ansatz von 100 ccm Butylalkohol, 720 mg Mandelsäure, 4 g Schweinepankreaspulver und 200 mg Magnesiumchlorid wurde 18 Stunden bei 32° C geschüttelt. Die Synthese betrug in dieser Zeit 28%. Nach der Aufarbeitung verbrauchten 2 ccm der polarisierten Lösung 12,1 ccm n/25 Natronlauge. Die Lösung war also 3,6%ig. Sie drehte im 1 dm-Rohr — 0,03° (s. Tabelle IX, Nr. 4).

Einfluß von taurocholsaurem Natrium auf die Konfigurationsspezifität der Schweinepankreasesterase bei der Butylmandelatsynthese.

Ein ebenso angesetzter Versuch mit taurocholsaurem Natrium statt Magnesiumchlorid ergab nach der Aufarbeitung der nicht veresterten Mandelsäure bei der Polarisation eine Drehung von + 0,03° im 1 dm-Rohr (die Lösung war 2,5%ig).

Der Einfluß von Strychnin auf die Konfigurationsspezifität der Menschenleberesterase, bei der Butylmandelatsynthese.

Ein weiterer Ansatz von 100 ccm Butylalkohol, 720 mg Mandelsäure und 200 mg Strychnin wurde mit 4 g Menschenleberpulver geschüttelt und die unveresterte Mandelsäure chemisch aufgearbeitet und polarisiert. Die polarisierte Lösung war 2,3%ig, und die Drehung im 1 dm-Rohr betrug — 0,03°.

Es konnte also zunächst wieder gezeigt werden, daß die Mandelsäure symmetrisch verestert wird, wie es schon *P. Rona, R. Ammon* und *H. A. Oelkers*[1] beschrieben haben (s. Tabelle IX, Nr. 1 und 2). Ferner konnte durch Zusatzstoffe (Strychnin, taurocholsaures Natrium, Magnesiumchlorid) eine Beeinflussung der Konfigurationsspezifität sowohl der Schweinepankreasesterase als auch der Menschenleberesterase bei der synthetisierenden Wirkung auf die Butylmandelatsynthese nicht erreicht werden.

[1] l. c.

Tabelle IX.

Übersicht über die zur Beeinflussung der Konfigurationsspezifität angesetzten Versuche.

Versuch Nr.	Fermentart g	Molarität	mg Zusatzstoff auf 100 ccm bezogen	Synthese %	Bemerkungen
1*	4 Schwp.**	m/20	—	35	Als Alkohol: iso-Amylalkohol.
2*	4 „	m/20	—	31	Als Alkohol: Norm. Butylalkohol.
3*	5 „	m/20	200 mg Strychnin	31	Dasselbe.
4*	4 „	m/20	200 mg Magnesiumchlorid	28	„
5*	4 „	m/20	200 mg Na-Taurocholat	30	„
6*	4 Mnl.***	m/20	200 mg Strychnin	26	„
7*	10 „	m/10	—	31	Als Alk.: Phenyl-Äthyl-Carbinol, s. Näheres im Text weiter unten.
8*	4,5 „	m/20	—	11	Als Alkohol: Norm. Butylalk. Näheres siehe im Text.

* Die $[\alpha]_D$ der unveresterten wiedergewonnenen Mandelsäure wären bzw. $-0{,}50^0$, $-0{,}92^0$, $-1{,}00^0$, $-0{,}83^0$, $+1{,}20^0$, $-1{,}30^0$, $-0{,}47^0$, $0{,}00^0$. ($[\alpha]_D$ der Mandelsäure ist $= \pm 155^0$.) Doch haben diese berechneten Werte bei der Kleinheit der gefundenen Drehungen keinen realen Wert.

** Schweinepankreaspulver.

*** Menschenleberpulver.

Bei der symmetrischen Bildung von Mandelsäureestern muß folgendes bedacht werden. Wenn von racemischer Mandelsäure, normalem Butylalkohol und dem Fermentpulver ausgegangen wird, so müßte, auch wenn einer Modifikation der Vorzug gegeben würde, bei Erreichung des Gleichgewichts doch wieder ein racemischer Ester vorhanden sein. Es wurde daher ein neuer Versuch mit normalem Butylalkohol, racemischer Mandelsäure und Menschenleberpulver angesetzt, um möglichst früh die Esterbildung zu unterbrechen (bei ungefähr 10% Mandelsäureschwund) und um dann nach der chemischen Aufarbeitung zu prüfen, ob jetzt die unveresterte wiedergewonnene und die veresterte, ebenfalls chemisch aufgearbeitete Mandelsäure eine Drehung aufweisen (s. Tabelle IX, Nr. 8). Auch in diesem Versuch konnte gezeigt werden, daß sowohl die unveresterte als auch die veresterte Mandelsäure ein so geringes spezifisches Drehungsvermögen aufwiesen, daß daraus kein Schluß auf die asymmetrische Esterbildung gezogen werden kann.

Versuch einer Äthyl-Phenyl-Carbinyl-Mandelatsynthese.

Zum Schluß wurde versucht, die Mandelsäure mit d, l-Äthyl-Phenyl-Carbinol zu verestern. Über die Synthesegröße von Äthyl-Phenyl-Carbinyl-Mandelat orientierten zwei Vorversuche:

Tabelle X.

Molarität annähernd	Carbinol ccm	Mandelsäure mg	Schwp. g	Mnl. g	Anfangs-Titer	Nach 7 Std.		Nach 22 Std.	
						Titer	Synthese %	Titer	Synthese %
m/20	10	70	0,5	—	1,92	—	—	1,45	24
m/40	10	30	0,5	—	0,94	—	—	0,67	29
m/5	20	700	—	3	8,5	7,2	15	6,5	23
m/10	20	350	—	3	4,67	3,37	28	3,02	35
m/20	20	180	—	3	2,37	1,73	27?	1,37	42

Schwp. = Schweinepankreaspulver. Mnl. = Menschenleberpulver.

Dann wurde ein Ansatz von 100 ccm Äthyl-Phenyl-Carbinol, 1,52 g Mandelsäure, 10 g Menschenleberpulver bereitet und 3 Tage geschüttelt. Die Synthese betrug nach dieser Zeit 31 %.

Der Ansatz wurde so aufgearbeitet, daß das unveresterte Carbinol mit dem Ester zusammen ausgeäthert wurde und die unveresterte Mandelsäure auf die früher beschriebene Art weiter aufgearbeitet, titriert und polarisiert wurde. Von der ätherischen Lösung des Esters und Carbinols wurde der Äther nach dem Trocknen abgedampft, der Rückstand filtriert und einer fraktionierten Vakuumdestillation unterworfen. Das Carbinol ging bei 10 mm Hg und 98° über, und es blieb ein gelblicher Rückstand von 1 bis 2 ccm, der mit 2 ccm racemischem Carbinol aus dem Fraktionierkolben ausgewaschen wurde und auf der Zentrifuge von einem bräunlichen Rückstand 10 Minuten abzentrifugiert und dann in ein 1 dm-Rohr zum Polarisieren gefüllt wurde. Diese Lösung zeigte im 1 dm-Rohr eine Drehung von + 0,20°. Danach wurde die gesamte Menge des aus dem Zentrifugenglas pipettierten Zentrifugats mit 6 ccm n-Natronlauge 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht unter Zusatz von abs. Alkohol. Die Lösung verbrauchte nach dem Verseifen 52,6 ccm n/10 Schwefelsäure. Aus den angegebenen Daten errechnet sich, daß sie rund 10 % Ester enthielt.

Die aus dem wässerigen Extrakt nach Ansäuern und Ausäthern aus dem Ätherextrakt wiedergewonnene unveresterte Mandelsäure zeigte im 2 dm-Rohr eine Drehung von höchstens — 0,05° (die Lösung war schwach bräunlich gefärbt und machte eine genaue Polarisation unmöglich) (s. auch Tabelle IX, Nr. 7).

Das unveresterte, durch die fraktionierte Vakuumdestillation gewonnene Carbinol drehte im 2 dm-Rohr + 0,08° (wahrscheinlich enthielt es geringe Mengen mitübergegangenen rechtsdrehenden Esters).

Zusammenfassung.

Der Einfluß von Strychnin, taurocholsaurem Natrium, Magnesiumchlorid und Calciumchlorid auf die Geschwindigkeit der Butylmandelatsynthese durch Menschenleber- und Schweinepankreaspulver und auf die stereochemischen Verhältnisse bei dieser Synthese wurde untersucht, und es wurde gefunden, daß Strychnin eine schwach hemmende Wirkung ausübt, während dem Magnesiumchlorid eine deutlich fördernde Wirkung unter den gewählten Bedingungen zukommt.

Eine optisch asymmetrische Synthese des Butylmandelats ließ sich durch keinen der genannten Zusatzstoffe erzielen.

Bei der Veresterung der Mandelsäure mit einem d, l-Alkohol, dem Äthyl-Phenyl-Carbinol, wird nur das Carbinol asymmetrisch verestert, und zwar das d-Carbinol schneller als das l-Carbinol, während gleichzeitig die d, l-Mandelsäure symmetrisch verestert wird.

Lebenslauf.

Ich wurde geboren am 8. Juni 1907 in Essen als Sohn des Regierungsbaumeisters a. D. Fritz Trurnit, Ingenieur bei der Firma Krupp und seiner Ehefrau Hedwig geb. Steinhoff.

Von Ostern 1913 bis Ostern 1922 besuchte ich die Vorschule und die Klassen Sexta bis Untersekunda des Reformrealgymnasiums in Essen-Rüttenscheid und von Ostern 1922 bis März 1925 das Realgymnasium in Essen-Bredeney, wo ich am 10. März 1925 die Reifeprüfung bestand. Das darauf folgende Halbjahr arbeitete ich als Tischler und Maurer bei verschiedenen Meistern als Vorbereitung auf das Studium der Architektur, das ich im Winterhalbjahr 1925/26 an der Technischen Hochschule in München begann. Ostern 1926 wechselte ich zur medizinischen Fakultät der Münchener Universität über. Mein medizinisches Studium absolvierte ich an den Universitäten zu München, Lausanne, Tübingen und Berlin. Das Physikum bestand ich am 8. März 1928 in Tübingen und das medizinische Staatsexamen am 3. Juli 1931 in Berlin.

Meine Dissertationsarbeit habe ich in der Chem. Abteilung des Pathol. Institutes der Charité, Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. P. Rona in der Zeit vom Oktober 1930 bis Dezember 1931 angefertigt. Augenblicklich bin ich als Medizinalpraktikant an der ersten Medizinischen Klinik der Charité.